

コレシストキニン阻害剤投与が運動習慣による ラット膵腺房細胞肥大に及ぼす影響

湊久美子, 代谷陽子

The Effect of Cholecystokinin Antagonist on Endurance Training induced Hypertrophy of Pancreatic Acinar Cells in Rats

Kumiko Minato and Yoko Shiroya

F344雌ラットをコントロール(C)群、CCK阻害剤であるCR1505投与したCR群、CR1505を投与し、さらに持久的トレーニングを実施したCR-T群、持久的トレーニングのみを実施したT群に群分けした。持久的トレーニングは35m/分のトレッドミル走を週5日、8週間負荷し、CR1505は10mg/kg体重を週に5日、8週間、皮下投与し、4群の膵外分泌機能を比較検討した。T群、CR-T群では、C群、CR群に比較して有意な体重増加抑制、下腿骨格筋肥大を認め、持久的トレーニング効果が得られた。CR群ではC群に比較して膵外分泌機能に変化は認められなかった。T群では、膵湿重量、膵蛋白含量がC群、CR群に比較して有意に増加し、膵腺房細胞の電子顕微鏡像においても細胞の肥大、酵素原顆粒の数の増加および大きさの肥大が観察され、膵外分泌機能への持久的トレーニング効果が認められた。一方、CR-T群では、膵蛋白含量の増加ならびに酵素原顆粒の数の増加は観察されたが、膵湿重量ならびに細胞や酵素原顆粒の大きさには変化が認められず、CR1505投与により膵外分泌機能への持久的トレーニング効果が一部消失していた。以上の結果より、持久的トレーニングによる膵湿重量の増加や腺房細胞の肥大はCCKの特異的阻害剤であるCR1505投与によって認められず、持久的トレーニングによる膵外分泌機能亢進にはCCKがmediatorとなることが明らかとなった。同時に、膵蛋白の合成や貯蔵にはCCKだけでなく、持久的トレーニングによって亢進する迷走神経系の関与も可能性が高いことが示唆された。

キーワード：CR1505 (loxiglumide)、CCK (コレシストキニン) 阻害剤、膵腺房細胞肥大、持久的運動習慣、電子顕微鏡像

緒 言

膵外分泌機能は、運動習慣¹⁾²⁾によって影響されることが報告されており、我々もこれまで

に、WistarおよびFischerラットを用いて、持久的運動習慣は膵湿重量を増大させること、基礎状態の膵組織酵素活性や膵分泌を増大させることなどを確認している³⁾⁴⁾。また、膵腺房細胞の電子顕微鏡像の解析から、持久的運動習慣が腺房細胞の肥大や分泌顆粒の増大をもたらすことも明らかにしてきた⁵⁾⁶⁾。

膵外分泌機能は、迷走神経と消化管ホルモンであるセクレチンならびにコレシストキニン(CCK)によって調節されている。CCKは膵酵素の合成や分泌を刺激し、膵への栄養効果、すなわちtrophic effectの作用を持ち、膵の肥大に密接にかかわるホルモンである⁷⁾。従って、持久的運動習慣による膵への影響にCCKが関与していることは十分に予測できる。そこで、CCKの特異的阻害剤であるloxiglumide (CR1505)⁸⁾を利用して、CCKの関与を遮断した状態で持久的トレーニングを行い、これまでに観察された膵へのトレーニング効果が認められるか否かを検討した。

方 法

実験動物：実験動物にはF344の雌ラット5週齢34例を用い、室温約21℃、12時間明暗サイクルで個別ケージ中で飼育した。1週間の予備飼育の後、体重が均等になるようにコントロール(C)群11例、CR1505投与(CR)群7例、CR1505投与およびトレーニング(CR-T)群6例、トレーニング(T)群10例に群分けした。飼料にはNMF(オリエンタル酵母)を用い、CおよびCR群には自由摂取、CR-TおよびT群には、その摂餌量が前日のコントロール群の摂餌量と同量になるように調整して給餌し、飲料水は水道水の自由摂取とした。

CR1505は、等モル量の0.1規定の水酸化ナトリウム液を加えて90℃以上で溶解し、生理食塩水で希釈して用いた。CR群およびCR-T群には1日1回、10mg/kg体重に相当するCR1505溶液を週に5日、8週間、皮下投与した。なお、CR1505は東京田辺製薬(株)から提供された。CR-T群およびT群には週に5日、1回60分間、傾斜角度なしのトレッドミル走を8週間負荷した。走行スピードは初期の2週間で徐々に上げ、最終的には35m/分とした。

実験動物の管理は「実験動物の飼養および保管に関する基準」(昭和55年3月総理府布告第6号)に則り行われた。

実験の手順：最終トレーニング終了2日後にペントバルビタール麻酔下で開腹し、全膵組織、腓腹筋、ヒラメ筋組織を摘出した。膵組織は湿重量測定後、一部に生食水を加えてホモジナイズし、0℃、9000回転で遠心分離後、上清中の蛋白濃度をビュレット法⁹⁾を用いて測

定した。

電子顕微鏡試料の作製：膵組織片を2.5%グルタルアルデヒド、1%オスミウム酸固定後、エタノール系列で脱水し、エポキシ樹脂に包埋、超薄切片を作製し、透過型電子顕微鏡（JEM-1220）にて加速電圧80kVで観察した。

統計処理：得られた数値の結果は各群の平均値と標準偏差で表し、4群間の有意差検定には一元配置の分散分析（ANOVA）を実施し、その結果が有意の場合には、各群毎の比較にFisher's PLSDを用いた。危険率5%未満（ $p < 0.05$ ）をもって有意と判定した。

結 果

表1に、実験時の体重、全実験期間中の1日あたりの平均摂餌量、腓腹筋、ヒラメ筋の湿重量を示した。平均摂餌量は4群間に差は認められなかったが、体重はC群に比較してトレーニングを実施したCR-T群およびT群で有意に低く、持久的トレーニングによる体重増加抑制が認められた。一方、下腿骨格筋である腓腹筋及びヒラメ筋の湿重量はC群およびCR群に比較してCR-T群およびT群で有意に重く、持久的トレーニングによる骨格筋肥大が観察された。

図1に、体重100g当たりの膵湿重量を示した。T群は他の3群に比較して有意に高くトレーニング効果が認められたが、CR-T群ではトレーニング効果は認められなかった。

図2に膵組織重量当たりの蛋白含量を示した。トレーニングを実施したCR-T群およびT

Table 1 Body Weight, food intake, and muscle weight in 4 groups

	C (n=11)	CR (n=7)	CR-T (n=6)	T (n=10)	ANOVA
body weight (g)	153.1 ± 10.9	146.6 ± 3.9	140.8 ± 2.3 ^a	143.1 ± 5.7 ^a	$p < 0.05$
food intake (g/day)	11.98 ± 0.53	12.10 ± 0.35	11.85 ± 0.22	12.07 ± 0.33	no significance
muscle weight (soleus) (mg/BW 100g)	38.22 ± 2.05	38.41 ± 1.93	43.97 ± 2.64 ^{ab}	43.47 ± 2.83 ^{ab}	$p < 0.05$
muscle weight (gastrocnemius) (mg/BW 100g)	512.6 ± 18.6	522.8 ± 12.0	540.9 ± 19.1 ^a	554.1 ± 17.6 ^{ab}	$p < 0.05$

Data are shown as mean ± SD

C : control group

CR : CR1505 group

CR-T: CR1505 + training group

T : training group

a: $p < 0.05$ vs C group

b: $p < 0.05$ vs CR group

群はトレーニングを実施しなかった他の2群に比較して有意に高く、トレーニング効果が認められた。

図3に、トレーニングを実施しなかったC群およびCR群の膵腺房細胞の電子顕微鏡像を示した。

C群の腺房細胞の電顕像では、発達した粗面小胞体、酵素原顆粒などが観察され、典型的な蛋白合成細胞像が得られた(図3a)。また、CR群においても細胞膜、粗面小胞体、核などの細胞の基本構造に大きな変化は認められなかった(図3b)。

図4にトレーニングを実施したCR-T群およびT群の膵腺房細胞の電子顕微鏡像を示した。T群の

腺房細胞の大きさがC群、CR群、およびCR-T群に比較して明らかに大きく、酵素原顆粒が腺腔側から核の付近にかけて広く分布し、その数が増加しているのが認められた(図4b)。さらに、それぞれの酵素原顆粒が肥大している傾向も観察された。CR-T群では、細胞や酵素原顆粒の大きさはC群、CR群と同様であったが、酵素原顆粒の数は明らかに増加してい

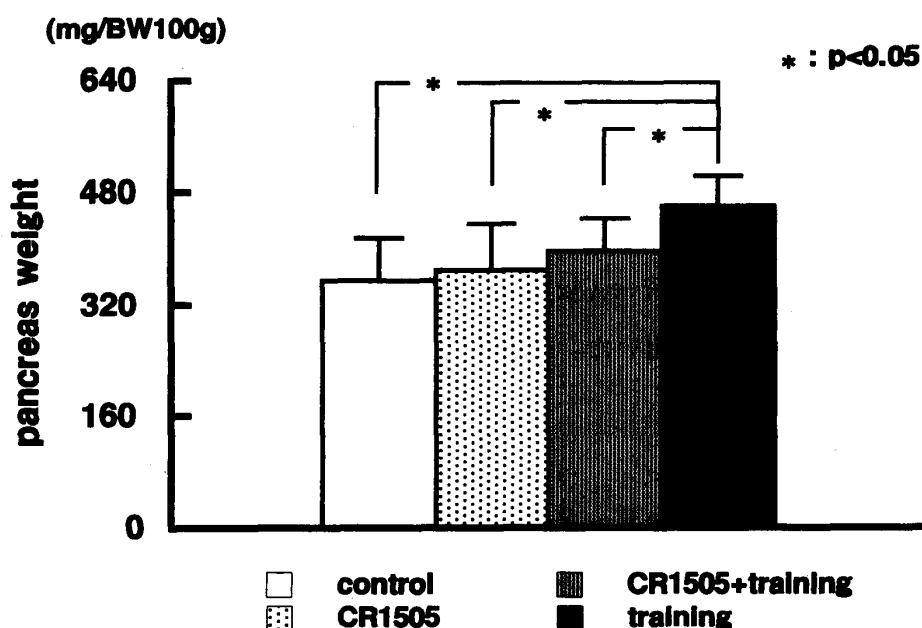


Fig.1 Pancreas wet weight in 4 groups

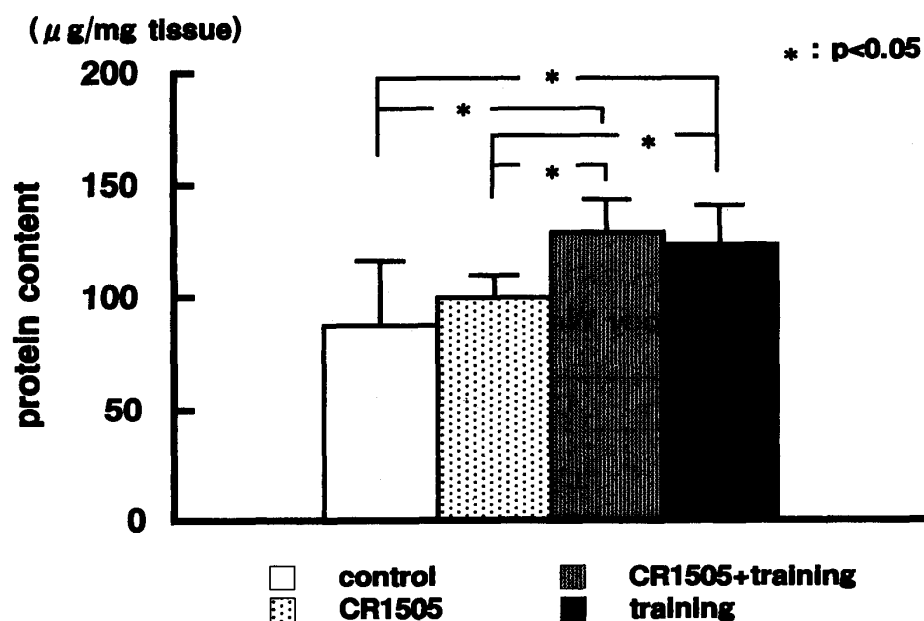


Fig.2 Protein content of the pancreas in 4 groups

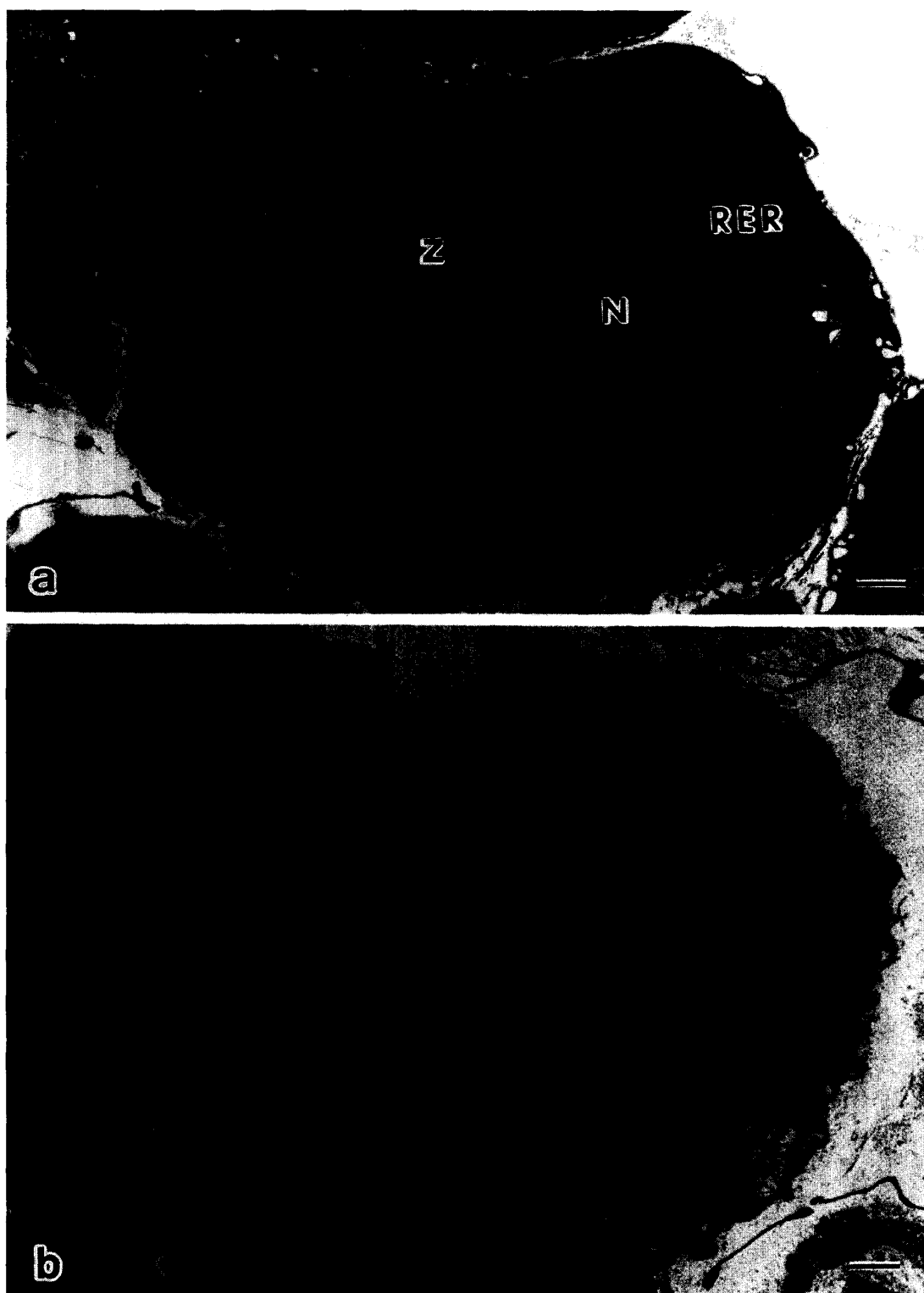


Fig.3 Electron micrographs of pancreatic acinar cells in control rats (a) and CR-1505 treated rats (b). N, nucleus; RER, rough endoplasmic reticulum; Z, zymogen granules. Bars = 1 μ m.

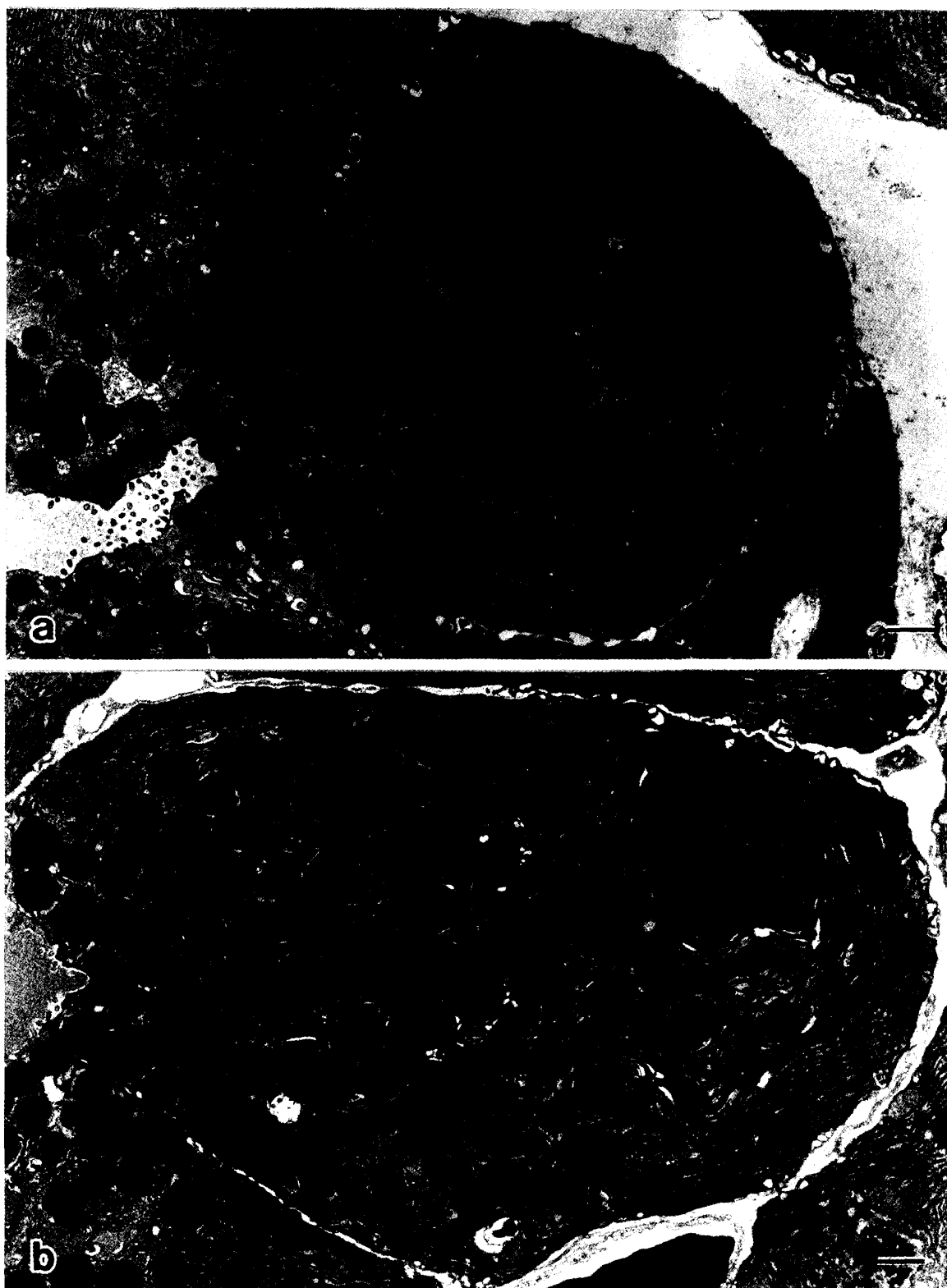


Fig.4 Electron micrographs of pancreatic acinar cells in CR-1505 treated plus trained rats (a) and trained rats (b). Bars = 1 μ m.

るのが観察された（図4a）。

考 察

今回のトレッドミル走による持続的トレーニングは、これまで我々が用いてきた方法³⁾⁵⁾と同様であり、持続的トレーニングによる体重増加抑制現象や下腿の骨格筋重量の増大が観察され、持続的トレーニングとして有効であった。また、膵湿重量および膵蛋白含量の増加や、膵腺房細胞の電子顕微鏡像によって膵腺房細胞の肥大や酵素原顆粒の増加などが確認され、膵外分泌機能についてもこれまでの報告³⁾⁴⁾⁵⁾⁶⁾と同様にトレーニング効果が認められた。

CCKの阻害剤であるCR1505を投与した影響については、CR1505投与のみでは明らかな影響は認められなかった。体重や摂餌量だけでなく、膵外分泌項目についてもC群と有意差は認められなかった。しかし、CR1505投与と同時に持続的トレーニングを実施したCR-T群では、T群に認められている膵湿重量の増加が認められなかった。また腺房細胞の大きさについても、T群に認められた明らかな肥大は確認できず、持続的トレーニング効果がCR1505の影響で消失していた。一方で、膵蛋白含量については、CR1505投与によっても持続的トレーニング効果は消失せず、CR-T群においてもT群と同様に高い蛋白含量が認められた。また、電子顕微鏡像からも、CR-T群では、酵素原顆粒がCラットに比較して増加しているのが認められた。CR1505は、膵腺房細胞上のCCKの受容体であるCCK-A-receptorを特異的に阻害する薬物である。ヒトの臨床では、膵外分泌の抑制が基本とされる膵炎の治療薬として用いられている。ラットにおいては、SD系ラットの静脈血中投与の毒性試験の結果、5、15mg/kg体重の6ヶ月間連続投与では、摂餌量、体重、膵臓を含む臓器重量、尿検査、血液化学的検査等に非投与ラットに比較して変化は認められていない⁸⁾。一方、1週間程度の短期間の皮下への大量投与によって膵湿重量や膵蛋白含量が減少することも報告されている¹⁰⁾。1週間の胃内投与の結果では、少量投与では膵外分泌機能の低下は認めなかったのに対して、大量投与では膵湿重量や膵蛋白含量の低下と同時に、膵分泌の減少も認められている¹¹⁾。

また、CCK-8やセルレイン刺激あるいは膵液を体外に誘導させることによって、膵液や蛋白の分泌は増大し、その栄養効果によって膵は肥大することが知られているが、この作用はCR1505の単発の大量投与によって抑制されることも認められている¹²⁾¹³⁾¹⁴⁾。従って、CR1505の影響には、その投与量についても関係していると考えられる。

今回用いた投与量（10mg/kg体重）は1回の投与量としては少量であり、毒性試験の結果と同様に8週間の投与では、体重、摂餌量、および膵重量には影響は認められず、また、膵

蛋白含量も変化しなかった。しかし、持久的トレーニングによる腓湿重量の増加、腺房細胞の肥大には今回の投与量でも影響が認められ、この増加や肥大はCR1505の投与によって抑制されていた。従って、持久的トレーニングによる腓湿重量の増加や腺房細胞の肥大にはCCKがmediatorとなっていることが明らかとなった。

一方で、持久的トレーニングによる腓蛋白含量の増加、腺房細胞中の酵素原顆粒の増加に対するCR1505による明らかな抑制効果は認められなかった。CR1505の投与量が少なかったことに起因しているかもしれない。また、持久的トレーニングによるこれらの増加には、CCK以外の関与、すなわち迷走神経系が影響していることも考えられる。持久的トレーニングにより、迷走神経系が亢進することはよく知られている。迷走神経を切除することによって、持久的水泳トレーニングによる食刺激後の腓外分泌増大が消失したという報告もあり²⁾、持久的トレーニングによる腓蛋白の合成や貯蔵の亢進への迷走神経系亢進の関与は十分に考えられる。

以上の結果から、持久的トレーニングによる腓外分泌機能亢進にはCCKが関与していることが明らかとなった。特に、持久的トレーニングによる腓肥大、腺房細胞の肥大はCCKを介する機構によって実現するものと考えられた。同時に、腓蛋白の合成や貯蔵にはCCKだけでなく、持久的トレーニングによって亢進する迷走神経系の関与も可能性が高いことが示唆された。

要 約

F344雌ラットをコントロール(C)群、CCK阻害剤であるCR1505投与したCR群、CR1505投与を投与し、さらに持久的トレーニングを実施したCR-T群、持久的トレーニングのみを実施したT群に群分けした。持久的トレーニングは35m/分のトレッドミル走を週5日、8週間負荷し、CR1505は10mg/kg体重を週に5日、8週間、皮下投与し、4群の腓外分泌機能を比較検討した。

1. T群、CR-T群では、C群、CR群に比較して有意な体重増加抑制、下腿骨格筋肥大を認めた。
2. CR群では、C群に比較して体重、腓湿重量、腓蛋白含量、腺房細胞の電顕像に変化は認められなかった。
3. T群ではC群、CR群に比較して腓湿重量の有意な増大を認めたが、CR-T群では認められなかった。
4. T群、CR-T群ではC群、CR群に比較して腓蛋白含量の有意な増大を認めた。

5. T群の膵腺房細胞の電顕像では、C群、CR群に比較して細胞と細胞内の酵素原顆粒の肥大が観察されたが、CR-T群ではこれらの肥大は観察されなかった。

6. T群、CR-T群ではC群、CR群に比較して膵腺房細胞の酵素原顆粒の増加が観察された。

以上の結果より、持久的トレーニングによる膵湿重量の増加や腺房細胞の肥大はCCKの特異的阻害剤であるCR1505投与によって認められず、持久的トレーニングによる膵外分泌機能亢進にはCCKがmediatorとなっていることが明らかとなった。同時に、膵蛋白の合成や貯蔵にはCCKだけでなく、持久的トレーニングによって亢進する迷走神経系の関与も可能性が高いことが示唆された。

本研究は、平成10-13年度文部省科学研究費補助金（No. 10680071）ならびに和洋女子大学平成11年度学内共同研究の助成によって行われている研究の一部である。ここに、深謝いたします。

文 献

- 1) Kugino, K., Kishino, Y. : Effect of voluntary exercise on pancreatic function of rats, *Nutr. Res.* **11**, 1273-1283, (1991)
- 2) Zsinka, A. J. N., Frenkl, R. : Exocrine function of the pancreas in regularly swimming rats, *Acta Physiol. Hung.* **62**, 123-129, (1983)
- 3) Minato, K. : Effect of endurance training on pancreatic enzyme activity in rats, *Eur. J. Appl. Physiol.*, **76**, 491-494, (1997)
- 4) 湊久美子, 内藤久士: 老齡ラットの膵酵素活性に及ぼす持久的運動習慣の影響, *体力科学*, **48**, 245-250, (1999)
- 5) 湊久美子, 代谷陽子: 持久的トレーニングがラット腺房細胞に及ぼす影響, *和洋女子大学紀要 (家政系編)*, **38**, 99-106, (1998)
- 6) Minato, K., Shiroya, Y., Nakae, Y., et al. : The effect of chronic exercise on pancreatic acinar cells in rats, *Int. J. Pancreatol.*, **23**, 252, (1998)
- 7) Poston, G. J., Saydjari, R., Lawrence, J. P., et al. : Aging and the trophic effects of cholecystokinin, bombesin and pentagastrin on the rat pancreas, *Pancreas*, **6**, 407-411 (1991)
- 8) 伊藤亮, 吉田真理子, 鈴木桂, その他: CR1505のラットにおける6ヶ月間反復静脈内投与毒性試験および1ヶ月間回復試験, *薬理と治療*, **25**, 2597-2618, (1997)
- 9) Gornall, A. G., Bardawill, C. J., David, M. M. : Determination of serum proteins by means of the biurel reaction, *J. Biol. Chem.*, **177**, 751, (1979)
- 10) Nakano, S., Tachibana, I., Otsuki, M. : Effects of cholecystokinin receptor antagonist

loxiglumide on rat exocrine pancreas, *Pancreas*, **9**, 425-33, (1994)

- 11) Imoto, I., Yamamoto, M., Jia, D. M., et al. : Effect oh chronic oral administration of the CCK receptor antagonist loxigkumide on exocrine and endocrine pancreas in normal rats, *Int. J. Pancreatol.*, **22**, 177-185, (1997)
- 12) Moriyoshi, Y., Shiratori, K., Iwabe, C., et al. : Duration of anti-cholecystokinin (CCK) action on the rat exocrine pancreas of new CCK receptor antagonist FK480 administered orally, *J. Gastroenterol.*, **31**, 249-253, (1996)
- 13) Taguchi, S., Green, G. M., Nakano, I., et al. : Inhibitory effects of the cholecystokinin antagonist loxiglumide on pancreatic exocrine secretion and pancreatic growth in conscious rats, *Int. J. Pancreatol.*, **11**, 67-73, (1992)
- 14) Watanabe, N., Otsuki, M. : Duration and potency of antichlecystokinin action of subcutaneous and oral loxiglumide on cerulein-stimulated pancreatic exocrine secretion, *Int. I. Pancreatol.*, **13**, 129-137, (1993)

湊 久美子 (家政学部健康栄養学科助教授)

代 谷 陽 子 (家政学部生活環境学科助教授)